

# Széklet és szájüregi mikrobiomok változásának vizsgálata intenzív ellátásban részesülő válságos állapotú betegekben



Szerzők: Mikolás Maja<sup>1</sup>, Szilágyi-Rác Anna<sup>2</sup>, Németh Péter<sup>3</sup>, Petrilla Annamária<sup>3</sup>, Szilágyi-Tolnai Emese<sup>2</sup>, Dávid Péter<sup>2</sup>, Fauszt Péter<sup>2</sup>, Stágel Anikó<sup>2</sup>, Stündl László<sup>4</sup>, Gál Ferenc<sup>2</sup>, Gálné Remenyik Judit<sup>2</sup>, Pahalcsék Melinda<sup>2</sup>

Affiliáció:

<sup>1</sup> Debreceni Egyetem, Molekuláris Sejt-, és Immunbiológiai Doktori Iskola, Debrecen

<sup>2</sup> Debreceni Egyetem, Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar, Komplex Rendszerek és Mikrobiom-innovációk Központ, Debrecen

<sup>3</sup> Vas Vármegyei Markusovszky Egyetemi Oktatókórház, Központi Aneszteziológiai és Intenzív Betegellátó Osztály, Szombathely

<sup>4</sup> Debreceni Egyetem, Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar, Élelmiszertechnológiai Intézet, Debrecen

## 1. Bevezetés

Az emberi szervezetet kolonizáló több milliárd mikroorganizmus főleg az orális- és gasztrointesztinális traktusban található meg. A bélmikrobiom szoros kapcsolatban áll az immunrendszerrel, hatással van az immunválaszokra és számos mechanizmus révén képes segíteni a patogének elleni védelmet. Az orális mikrobiom is fontos szerepet játszik egészségünkben, a szájüreg egészségi állapota ugyanis számos szisztémás kimenetelhez köthető<sup>[5,4]</sup>. A bél és szájüregi mikrobiom egymással összeköttetésben van, és főleg a nyál közvetítésével számos orális baktérium transzportálódik a bélbe. Legyengült szervezet, betegség esetén utóbbi ténynek súlyos következményei lehetnek, mivel az orális patogének a bélbe kerülve elszaporodhatnak és fertőzések kialakulásához vezethetnek<sup>[3]</sup>. A kritikus állapotú betegek mikrobiomját számos hatás éri, mint az antimikrobiális terápiák, mesterséges táplálás, szepszis, illetve további kórházi beavatkozások, és e hatások eredményeként az intenzív osztályra történő bekerülést követően mikrobiomjuk néhány óra alatt jelentősen romlik<sup>[5]</sup>. A mikrobiális diverzitásuk csökken, a kialakult diszbiózis utat enged a potenciális patogének elszaporodásának, különböző fertőzések kialakulásának. Így nem meglepő, hogy a halálozás vezető oka az intenzív osztályon a fertőzés<sup>[2][5]</sup>. Mindemellett a fertőzések hátterében gyakran multidrog-rezisztens fajok állnak, ezáltal tovább nehezíti a betegek kezelése. Ezen mikrobák megtalálhatóak egyrészt a bélmikrobiomban, valamint a kórházi környezet is gyakori forrásuk<sup>[1]</sup>.

## 2. Célkitűzés

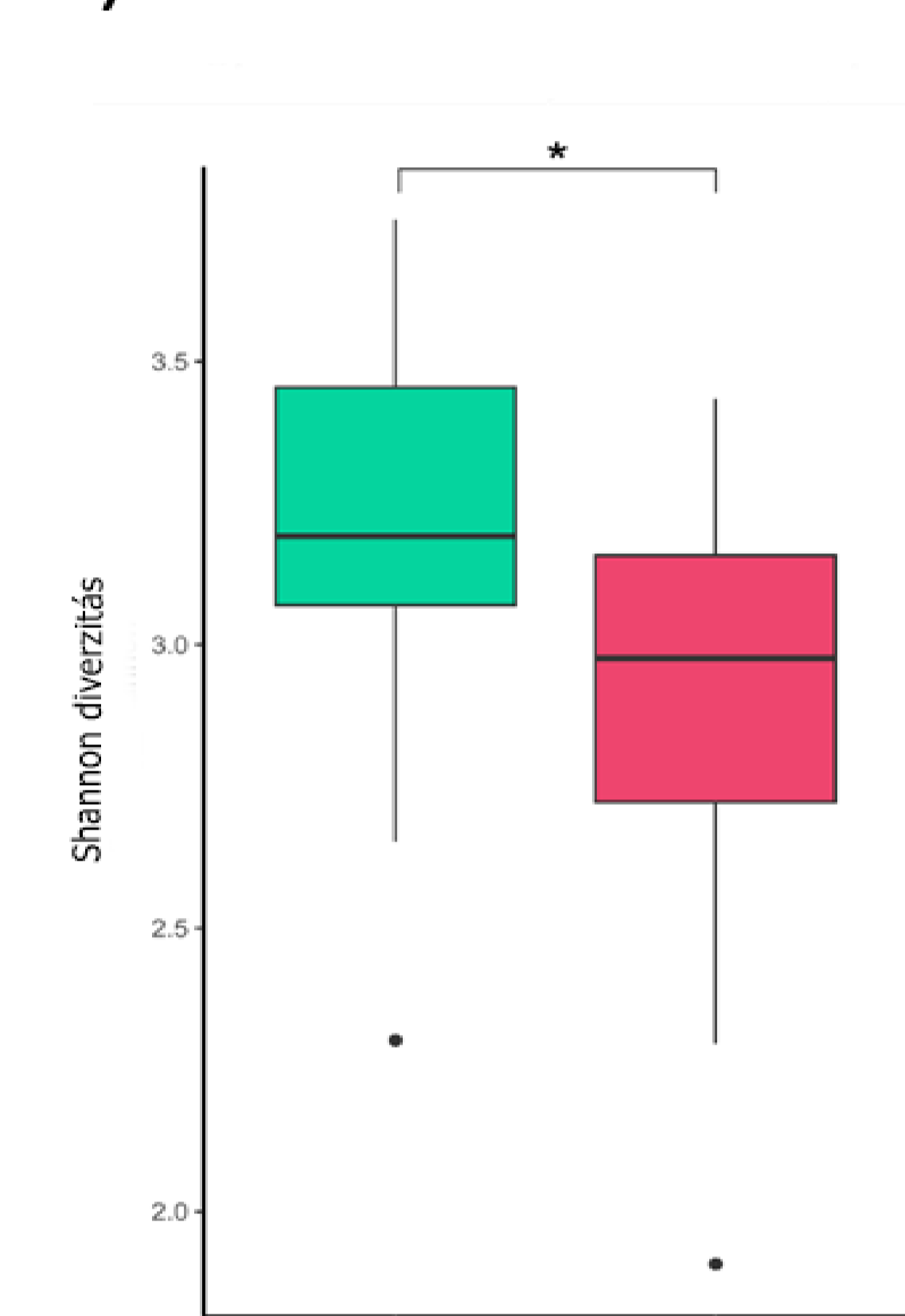
Célunk a kritikus állapotú betegek mikrobiális változásainak azonosítása. Összefüggéseket keresünk a taxonómiai összetételek diverzitása, az alkalmazott antimikrobiális terápiák, valamint gyógyszerrezisztenciák között. Eredményeink segíthetnek hatékonyabb egészségügyi stratégiák kidolgozásában, az antibiotikum-kezelések és az antibiotikum-rezisztencia összefüggéseinek jobb megértésében, az antimikrobiális terápiák hatékonyabb alkalmazásában.

## 3. Módszertan

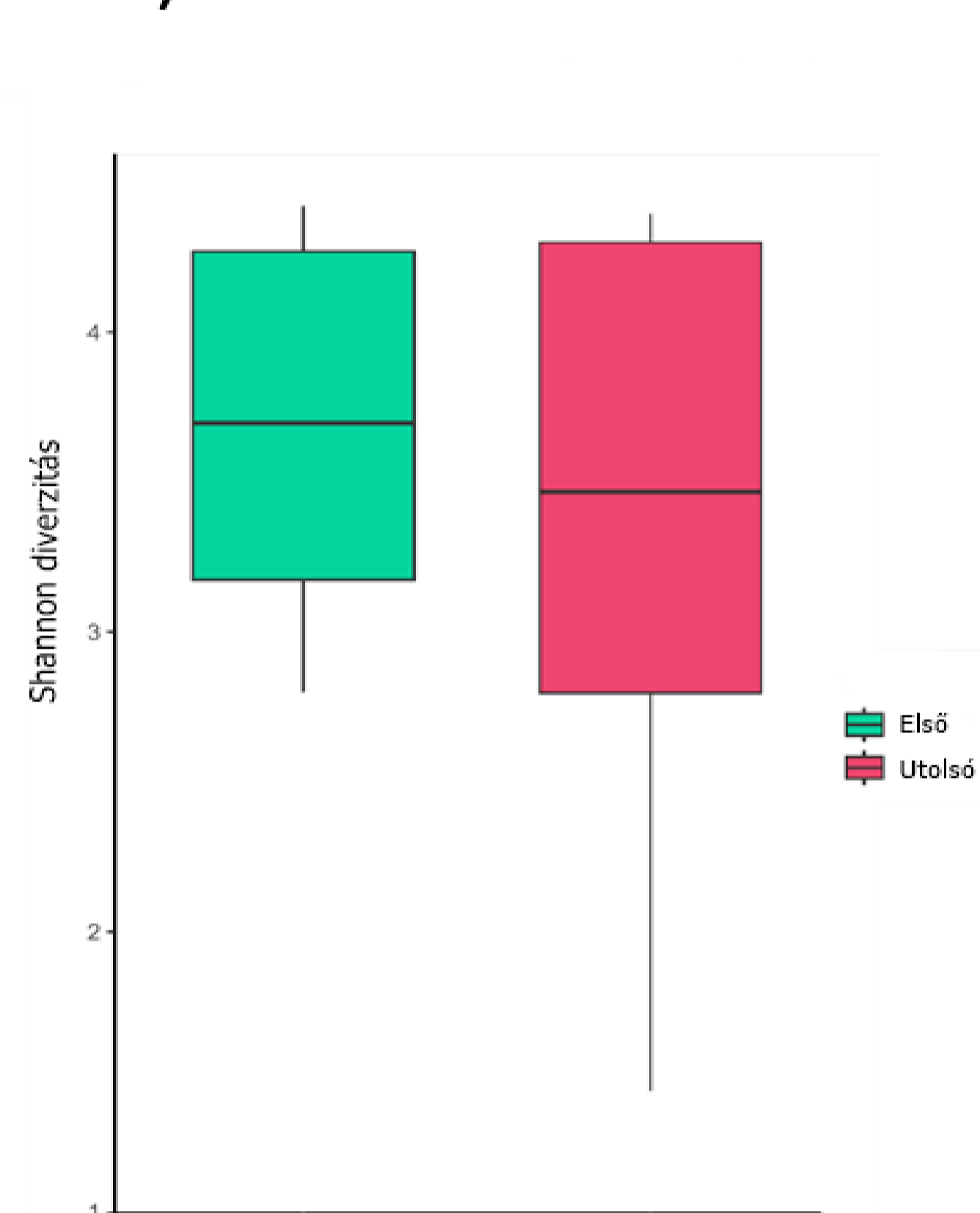
Kutatásunk során 20 fő intenzív osztályon elhunyt beteg széklet- és orális mikrobiom mintáit vizsgáltuk. A DNS izolálás Qiagen Dneasy Stool Kittel végeztünk. Shotgun szekvenálás Illumina NovaSeq 6000 műszeren történt a Novogene Co. Ltd.-nél (Egyesült Királyság). Szekvenálási adatokat a SqueezeMeta programmal, egy teljesen automatizált metagenomikai folyamattal elemeztünk. A program hatékony futtatásához a KIFÜ Magyar Nagyteljesítményű Számítástechnikai Kompetencia Központját (HPC CC) vettük igénybe. További bioinformatikai elemzéseket végeztünk az R Studio segítségével a következő csomagokkal: MicrobiotaProcess, phyloseq, microbiome. Az adatok megjelenítéséhez az R Studio ggplot2, pheatmap csomagokat használtuk.

## 4. Eredmények

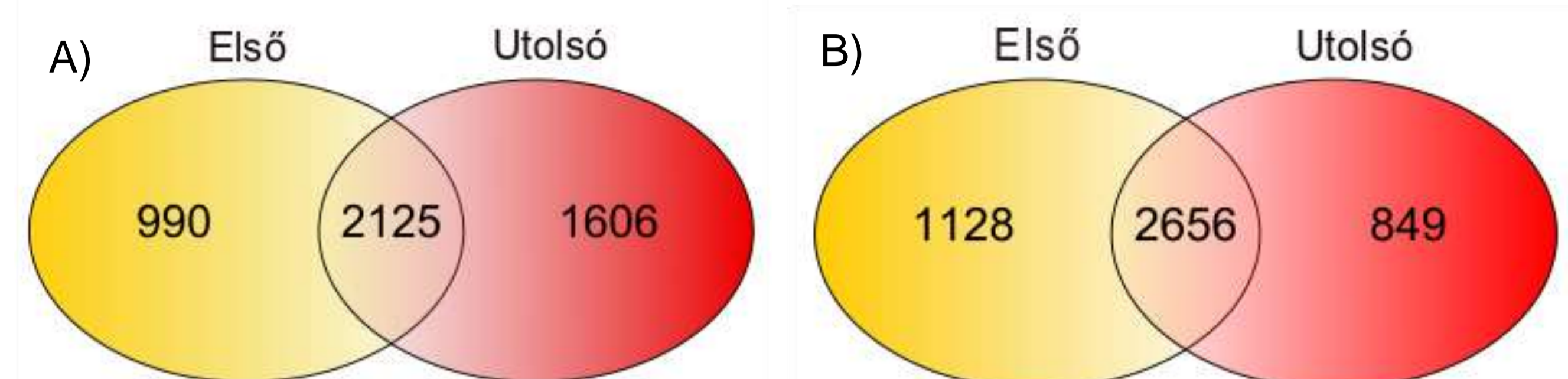
a)



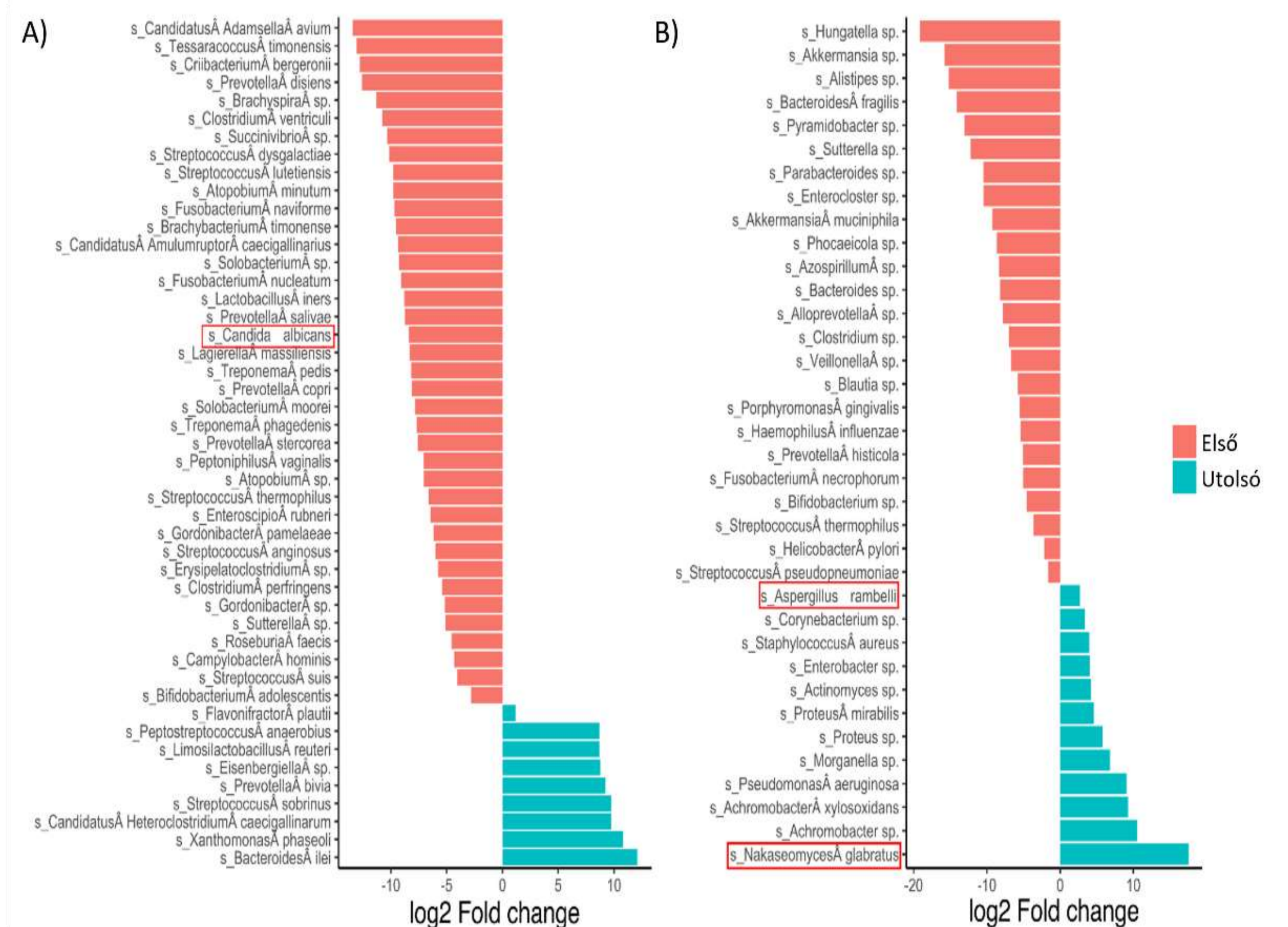
b)



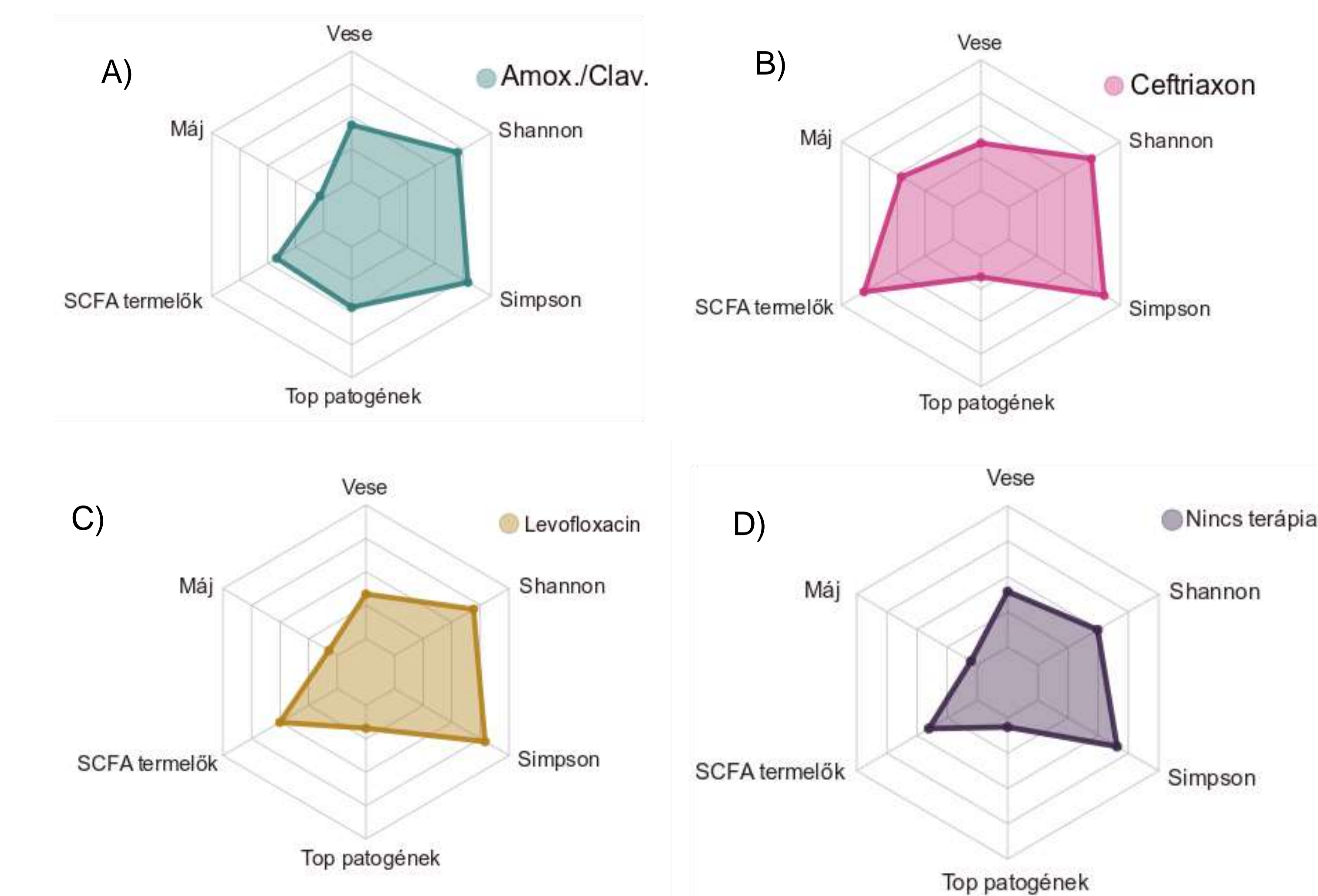
1.Ábra. A boxplot ábrák Shannon diverzitást mutatnak be a betegek a) széklet és b) nyál mintáiban. A pre-mortem betegek széklet mintái szignifikáns mikrobiális diverzitás csökkenést mutatnak. A csillagok szignifikáns különbséget jelölnek: \*p<0,05.



2.Ábra. A Venn diagram a vizsgálati csoportok (első és utolsó) közös, és egyedi OTU-k számait mutatja A) széklet, illetve B) nyál minták esetén.



3.Ábra. Oszlopdiagram reprezentálja az első és utolsó A) széklet és B) nyál mintákban is megtalálható, szignifikánsan változott taxonokat faji szinten. Pirosan bekeretezve a gomba fajok láthatóak.



5.Ábra. A radardiagramok a vérparaméterek átlagos normalizált számát (vese, máj), az SCFA-termelők és a top patogének relatív gyakoriságát, valamint az alfa-diverzitási indexeket (shannon, simpson) mutatja: A) Amoxicillin/Clavulánsav, B) Ceftriaxon, C) Levofloxacin, azaz a 3 fő antimikrobiális monoterápia alapján, illetve D) antimikrobiális terápia hiányában.

## 5. Összegzés

A szájüreg és a bél anatómiai összeköttöttségéből kifolyólag, az orális-, illetve a bélmikrobiom kölcsönhatásban állnak egymással, így a bennük bekövetkező változások hatással vannak a betegek egészségi állapotára. Vizsgálataink alapján a kritikus állapotú betegek mikrobiális diverzitása csökken, és ez a felborult egyensúlyi állapot akár kapcsolatban állhat a betegek prognózisával. Továbbá a mikrobiom sokszínűségére a kórházban töltött idő alatt kapott antibiotikumok negatív hatással vannak, mely tovább nehezíti a betegek felépülését. A jövőben a mikrobiom sokféleségének megváltozása szolgálhat az intenzív osztályon lévő betegek prognózisának előrejelző tényezőjeként. Ahhoz, hogy mélyebb betekintést nyerjünk ebbe a bonyolult mikrobiális rendszerbe és új terápiás stratégiák kifejlesztésének útját is megnyithassuk, további kutatásra van szükség.

## Referencia

- [1] Ahn D, Prince A. (2017). Host-Pathogen Interface: Progress in Understanding the Pathogenesis of Infection Due to Multidrug-Resistant Bacteria in the Intensive Care Unit. *J Infect Dis.* 2017 Feb 15;215(suppl\_1):S1-S8. doi: 10.1093/infdis/jiw405.
- [2] Freedberg DE, Zhou MJ, Cohen ME, Annavajhala MK, Khan S, Moscote DI, Brooks C, Whittier S, Chong DH, Uhlemann AC, Abrams JA. Pathogen colonization of the gastrointestinal microbiome at intensive care unit admission and risk for subsequent death or infection. *Intensive Care Med.* 2018 Aug;44(8):1203-1211. doi: 10.1007/s00134-018-5268-8
- [3] Ingar Olsen & Kazuhisa Yamazaki (2019) Can oral bacteria affect the microbiome of the gut?, *Journal of Oral Microbiology*, 11:1, DOI: 10.1080/20002297.2019.1586422
- [4] Maki KA, Kazmi N, Barb JJ, Ames N. The Oral and Gut Bacterial Microbiomes: Similarities, Differences, and Connections. *Biological Research For Nursing.* 2021;23(1):7-20. doi:10.1177/1099800420941606
- [5] Szychowiak P, Villageois-Tran K, Patrier J, Timsit JF, Ruppé É. The role of the microbiota in the management of intensive care patients. *Ann Intensive Care.* 2022 Jan 5;12(1):3. doi: 10.1186/s13613-021-00976-5.

Elérhetőség:

E-mail: mikolas.maja@agr.unideb.hu